

NORGE



STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

Utlegningskrift nr. 126798

Int. Cl. C 07 d 51/78 kl. 12p-6

Patentsøknad nr. 3447/69 Inngitt 28.8.1969

Løpedag -

Søknaden alment tilgjengelig fra 2.3.1970

Søknaden utlagt og utlegningsskrift utgitt 26.3.1973

Prioritet begjært fra: 30.8.1968 Tyskland,
nr. P 17 95 264

Bayer Aktiengesellschaft,
509 Leverkusen-Bayerwerk, Tyskland.

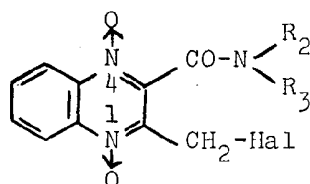
Oppfinnere: Roland Nast, Jakob-Böhme-Str. 2, Köln-Buchheim,
Kurt Ley, Auf dem Heidchen 19, Odenthal-Glöbusch,
Ulrich Eholzer, Gerstenkamp 10, Köln-Stammheim,
Karl-Georg Metzger, Pahlkestr. 5, Wuppertal-Elberfeld og
Dieter Fritsche, Kieler Str. 74, Köln-Lindenthal,
alle: Tyskland.

Fullmektig: Bryns Patentkontor A/S

Analogifremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk aktive
nye 3-karboksylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyder-(1,4).

Oppfinnelsen vedrører en analogifremgangsmåte for fremstilling av nye 3-karboksylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyder-(1,4), som har kjemoterapeutiske egenskaper.

Det er blitt funnet at man får nye 3-karboksylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyder-(1,4) når man omsetter i et organisk oppløsningsmiddel eventuelt i nærvær av vann i temperaturområdet fra ca. 10 til ca. 160°C 2-halogenmetyl-3-karboksylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyder-(1,4) med den generelle formel (I)



(I)

126798

hvor

R_2 og R_3 er like eller forskjellige og betyr hydrogen eller en lavere alkylrest, og

Hal betyr klor og brom,

med salter av α -hydroksey-karboksyler med formel II

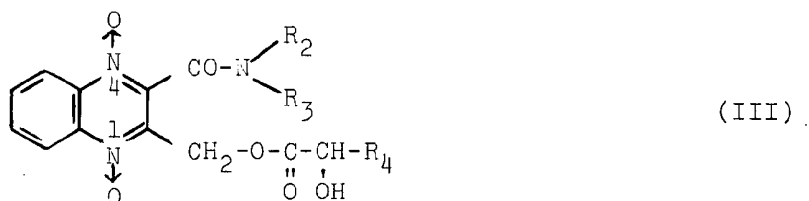


hvor

Me betyr natrium, kalium eller ammonium,

R_4 betyr hydrogen, en lavere alkylrest eller en fenylrest.

De ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen oppnåelige nye forbindelser tilsvarer den generelle formel (III)



hvor restene R_2 til R_4 har den ovenfor angitte betydning.

De ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen oppnåelige nye 3-karboksylyreamido-kinoksalin-di-N-oksyder-(1,4) viser overraskende en utmerket kjemoterapeutisk virkning. De nevnte alkyl- og alkoksyrester R_1 har generelt 1 - 4 karbonatomer. De eventuelt substituerte alifatiske rester (R_2 , R_3) er såvel rettlinjede som forgrenede alkylrester med inntil 12, fortrinnsvis inntil 6 karbonatomer som også sykloalifatiske rester med 5 - 7 karbonatomer i ringsystemet. Substituentene (alkoksy, karbalkoksy) av de nevnte alifatiske rester R_2 og R_3 har vanligvis 1 - 4 karbonatomer i alkylgruppen, mono- og dialkylaminogrupperne har likeledes vanligvis 1 - 4 karbonatomer pr. alkylgruppe. For det tilfelle at R_2 og R_3

Som substituenten (inntil 5, fortrinnsvis 1 eller 2) ved fenylresten kan det nevnes alkyl og alkoksy (fortrinnsvis 1 - 4 C-atomer), hydroksy, halogen (fortrinnsvis klor) resp. acyloksyresten av en lavere alifatisk karboksylsyre.

$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 \parallel \\
 \text{N} \\
 \text{C}_6\text{H}_4 \\
 \text{N} \\
 \parallel \\
 \text{O}
 \end{array}
 \begin{array}{c}
 \text{CO-NH-CH}_3 \\
 \text{CH}_2\text{-Cl}
 \end{array}
 + (\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}^+\text{NH}^-\text{O-C(=O)-CH(OH)-C}_6\text{H}_5
 \longrightarrow
 \begin{array}{c}
 \text{O} \\
 \parallel \\
 \text{N} \\
 \text{C}_6\text{H}_4 \\
 \text{N} \\
 \parallel \\
 \text{O}
 \end{array}
 \begin{array}{c}
 \text{C(=O)-NH-CH}_3 \\
 \text{CH}_2\text{-O-C(=O)-CH(OH)-C}_6\text{H}_5
 \end{array}
 + (\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}\cdot\text{HCl}$$

2-klormetyl-3-metylkarbonylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyd-
(1,4), 2-klormetyl-3-butyłkarboksylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyd-
(1,4), 2-klormetyl-3-(β -metoksy-etylkarboksylsyreamido-chinoksalin)-
chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klormetyl-3-dimetyłkarboksylsyre-
amido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klormetyl-3-(β -acetoksy-etyl-
karboksylsyreamido)-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klormetyl-3-
cykloheksylkarboksylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-brom-
metyl-3-pyrrolidylkarboksylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4),
2-klormetyl-3-karbonylsyreamido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klor-

metyl-3-metylkarboksylysyreamido-7-metyl-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klormetyl-3-metylkarboksylysyreamido-7-metoksy-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klormetyl-3-metylkarboksylysyreamido-7-etoksy-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klormetyl-3-metylkarboksylysyreamido-7-klor-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4), 2-klormetyl-3-piperazinylylkarboksylysyreamido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4).

For de som reaksjonsdeltager anvendte α -hydroksykarboksylsyrer skal eksempelvis nevnes: Melkesyre, hydroksyeddiksyre, mandelsyre.

Pr. mol 2-halogenmetyl-3-karboksylysyreamido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4) anvender man en til to mol av et salt av de nevnte α -hydroksykarboksylsyrer i fast form eller oppløst i vann eller et til to mol av α -hydroksykarboksylsyren og et til to mol trietylamin. Som fortynningsmidler kan det anvendes med vann blandbare organiske oppløsningsmidler, lavere alkoholer, fortrinnsvis etanol, acetonitril, dimetylformamid, dimetylsulfoksyd, dioksan. En foretrukken utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen består i at man suspenderer eller oppløser 1 mol av 2-halogenmetyl-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4) i et av de nevnte organiske fortynningsmidler og tilsetter 1 til 2 mol av α -hydroksykarboksylsyren og minst 1 mol trietylamin.

Omsetningene gjennomføres i temperaturområdet fra ca. 10 til ca. 160°C, fortrinnsvis ved ca. 40 til ca. 100°C.

3-karboksylysyreamido-chinoksalin-di-N-oksydene-(1,4) med formel I er krystallinske fargeløse eller lysegule til kjøttfargede stoffer. De utskiller seg vanligvis ved avkjøling av reaksjonsblandingen i krystallinsk form og kan isoleres på vanlig måte og eventuelt renses.

Som allerede nevnt, viser de ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen tilgjengelige nyere forbindelser kemoterapeutisk virkning. Deres kemoterapeutiske virkning ble prøvet i dyreforsøk (oralt og subkutant) ved akutte bakterielle infeksjoner og in vitro. De viser i begge tilfelle meget god antibakteriell virkning, idet virkningsområdet omfatter såvel gramnegative som også grampositive bakterier. Forbindelsene kan administreres såvel oralt som også parenteralt.

Vanligvis har det vist seg fordelaktig å administrere mengder fra ca. 25 mg til ca. 150 mg pr. kg legemsvekt pr. dag for oppnåelse av virksomme resultater. Allikevel kan det likeledes

være nødvendig å avvike fra de nevnte mengder, nemlig i avhengighet av forsøksdyrets legemsvekt resp. typen av applikasjonsmåte, men også på grunn av dyretype og deres individuelle forhold overfor medikamenter resp. typen av dets formulering og tidspunktet resp. intervallet hvortil administreringen foregår. Således kan det i noen tilfelle være tilstrekkelig å komme ut med mindre enn ovennevnte minstemengde, mens det i andre tilfelle må overskrides den nevnte øvre grense. I tilfelle applikasjon av større mengder kan det være å anbefale å fordele disse i flere enkeltdoseringer over dagen.

Kemoterapeutika kan anvendes enten som sådanne eller også i kombinasjon med farmasøytisk godtagbare bærere. Som administreringsformer i kombinasjon med forskjellige bærere kommer det på tale tabletter, kapsler, puddere, sprays, vandige suspensjoner, injiserbare oppløsninger, eliksirer, siruper og lignende. Slike bærere omfatter faste fortynningsmidler eller fyllstoffer, et sterilt vandig medium samt forskjellige ikke-toksiske organiske oppløsningsmidler og lignende. Selvsagt kan de for en oral administrering angjeldende tabletter og lignende utstyres med søtningstilsetninger og lignende. Den terapeutisk virksomme forbindelse skal i ovennevnte tilfelle være til stede i en konsentrasjon fra ca. 0,5 til 90 vektprosent av den samlede blanding, dvs. i mengder, som er tilstrekkelige til å oppnå det ovennevnte doseringsspillerom.

I tilfelle oral anvendelse, kan tablettene selvsagt også inneholde tilsetninger som natriumcitrat, kalsiumkarbonat og dikalsiumfosfat sammen med forskjellige tilsetningsstoffer, som stivelse, fortrinnsvis potetstivelse, og lignende, og bindemidler som polyvinylpyrrolidon, gelatin og lignende. Videre kan det med- anvendes glidemidler som magnesiumstearat, natriumlaurylsulfat og talkum til tabletteringen. I tilfelle vandige suspensjoner og/eller eliksirer som er tenkt for oral anvendelse, kan det virksomme stoff finne anvendelse ved forskjellige smaksforbedrere, fargestoffer, emulgerings- og/eller sammen med fortynningsmidler som vann, etanol, propylenglykol, glyserin og lignende slike forbindelser resp. kombinasjoner.

For tilfellet parenteral anvendelse kan det anvendes oppløsninger av det virksomme stoff i sesam- eller jordnøttolje eller i vandig propylenglykol eller N,N-dimetylformamid, likeledes som sterile vandige oppløsninger i tilfelle vannoppløselige forbindelser.

Slike vandige oppløsninger skal i behovstilfelle være avpufret på vanlig måte og videre bør det flytende fortynningsmiddel på forhånd innstilles isotonisk ved tilsetning av den nødvendige salt- eller glykosemengde. Slike vandige oppløsninger egner seg spesielt for intravenøse, intramuskulære og intraperitoneale injeksjoner.

Fremstillingen av slike sterile vandige media foregår på kjent måte.

Av følgende sammensetilling fremgår virkningen av noen av de omtalte forbindelser, idet de undersøkte forbindelsers nummere tilsvarende numrene av de etterpå anførte eksempler. I dyreforsøkene med hvite mus ble de intraperitonealt infiserte dyrene behandlet subkutan eller oralt som følger:

1) Engangs inngivning subkutan eller peroralt av 1000 mg, 500 mg, 200 mg, 100 mg, 50 mg, 25 mg, 12,5 mg resp. 6,25 mg/kg 15 min. før eller 90 min. etter infeksjon.

2) To gangers (resp. tre gangers) inngivning av 6,25 mg, 12,5 mg, 25 mg, 50 mg resp. 150 mg/kg to timer før og 5 timer etter infeksjon.

3) Fire gangers inngivning av 50 mg resp. 150 mg/kg to timer før infeksjon, kort før infeksjon, 3 timer, 5 timer og (eller) 21 timer og 29 timer etter infeksjon.

Som infeksjonskimer ble det anvendt *E. coli*, *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae* bzw. *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* og *Pseudomonas aeruginosa*.

ED₁₀₀ av de mot *E. coli* C 165 mest virksomme forbindelser (f.eks. stoff 1 og 4) ligger ved engangs inngivning oralt eller subkutan mellom 5 mg/kg og 100 mg/kg.

DL₅₀ ligger i doseringsområdet fra ca. 400 mg/kg til ca. 1500 mg/kg etter en gangs oral inngivning på mus. Stoffene er dermed relativt ugiftige, da de relativt mindre godt tålbare utmerker seg ved høyere virkning og følgelig bare anvendes i lavere dosering. Også ved behandling av rotter med to ganger daglig 60 mg/kg oralt over to uker var stoffene godt tålbare.

Ved akutte ascenderende urinveisinfeksjoner på rotter (Pyelone-fritider) ble det anvendt doseringer med 2 x 15 mg/kg daglig over 7 - 10 dager med resultat og ble tålt godt.

In vitro virker stoffene bakteriostatisk og bakterisid. De er også virksomme overfor mycoplasmer i doseringsområdet 5-30 ~~mg~~ ml.

Av følgende tabell fremgår at den baktericide resp. bakteriostatiske virkning av de omtalte forbindelser oppnår en bred skala av de i veterinærmedisinen aktuelle bakterieslekter. Virkningen strekker seg til gramnegative og grampositive bakterier. Forbindelsene kan anvendes oralt eller intramuskulært mot generelle infeksjoner ved husdyr, som f.eks. svin, storfe, fjærfe eller også intracisternalt mot infeksjoner av lokal type, som f.eks. Mastitis ved storfe. De gir i doseringsområdet på 5 mg/kg - 100 mg/kg legemsvekt høye speilverdier i serum og urin av svin, storfe og hund. Serumspeilverdien ligger alt etter dose mellom 5 μ g/ml og 100 μ g/ml. Urinspeilverdiene oppnår etter oral resp. intramuskulær anvendelse ved svin i avhengighet av dosen konsentrasjoner over 500 μ g/ml urin. Videre er forbindelsene anvendbare som foringstilsetningsmidler ved oppdrett av ung- eller gjødfø resp. fjærfe.

H e m m e v e r d i e r i n v i t r o .

Bakterie	Minimale hemmekonsentrasjoner i μ g/ml næringmedium			
	Forbindelse fra eksempel 1	Forbindelse fra eksempel 4	Forbindelse fra eksempel 3	Forbindelse fra eksempel 2
a	10	6 - 25	3 - 50	50 - 100
b	5	12 - 50	25 - 50	10
c	100 - 200	100	50 - 100	100
d	100	25	12 - 25	10
h	5	25 - 100	25 - 100	50 - 100
i	10	25 - 100	25	50 - 100
j	-	25	12	-
e	12	12 - 100	12 - 100	6
f	-	12	12	-
g	-	6	6	-
k	5 - 30	5 - 30	5 - 30	5 - 30
l	12	12	25	50
m	25	12	12	12
n	100	25 - 100	-	100
o	100	25 - 100	-	100
p	50 - 100	50 - 100	-	50 - 100

- a = *E. coli* sp.
- b = *Proteus* sp.
- c = *Pseudomonas aeruginosa* sp.
- d = *Klebsiella* sp.
- e = *Salm. typh.*
- f = *Coryneb. dipht.*
- g = *Neiss. cat.*
- h = *Staphylococcus aureus* sp.
- i = *Streptococcus pyogenes* w
- j = *Pneumococcus* sp.
- k = *Mycoplasma gallis.*
- l = *Corynebacterium pyogenes* (platepröve på oksoid-næringsagar)
- m = *Streptococcus agalactiae* (platepröve på oksoid-S-agar).
- n = *Hämphilus suis* (platepröve på næringsagar med blodtilsetning).
- o = *Brucella suis* (platepröve på blodagar)
- p = *Enterococcus faecalis.*

Dyreforsøk med hvite mus

Forbindelse fra eksempel	Dosis mg/kg oralt	Infeksjonskime	% overlevende dyr 24 timer etter infeksjon
1	1 x 200	Streptococcus pyogenes w	100
	1 x 200	Staphylococcus aureus 133	100
4	1 x 100	Pseudomonas aeruginosa w	100
	1 x 10	Escherichia coli C 165	100
	1 x 75	Staphylococcus aureus 133	100
3	1 x 150	Pseudomonas aeruginosa w	100
	1 x 10	Escherichia coli C 165	100
	1 x 75	Staphylococcus aureus 133	100
2	1 x 50	Pseudomonas aerug.w	90
	1 x 10	E. coli C 165	100
	1 x 25	Staph.aureus 133	100
	1 x 50	Streptococcus pyogenes w	90

Oppstigende urineveisinfeksjon med proteus mirabilis ved rotter: Etter behandling med forbindelse 4 over 7 dager med 2 x 15 mg/kg oralt ble det ikke iaktatt Pyelonefritider. Kontrollgruppens dyr var 100 % syke.

126798

Eksempel 1.

Man suspenderer 53,4 g (0,2 mol) 2-klormetyl-3-metyl-karbonamido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4) i 60 cm³ dimetylformamid, tilsetter 36,4 g (0,24 mol) α ,1-mandelsyre og 22,2 g (0,22 mol) trietylamin og omrører i 5 timer ved 60°C. Etter ca. 2 timer går chinoksalin-di-N-oksydet i oppløsning og trietylaminhydrokloridet faller ut.

Etter avsluttet omsetning avkjøler man, frasuger trietylaminhydrokloridet og inndamper filtratet ved 60°C i vakuum (12 mm). Ved utrøring av den gulbrune, oljeaktige rest med 300 cm³ metanol oppstår gule krystaller, som frasuges og vaskes med metanol og vann.

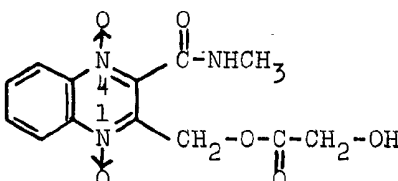
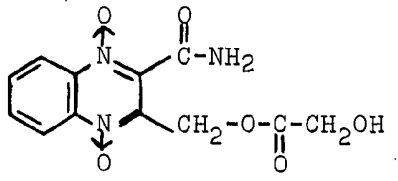
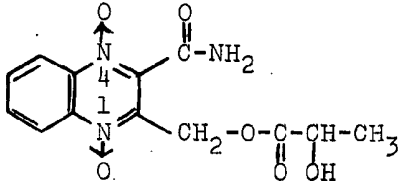
Man får 55 g (72% av det teoretiske) 2-(α -fenyl- α -hydroksy-acetoksymetyl)-3-metyl-karbonamido-chinoksalin-di-N-oksyd-(1,4) som gule krystaller, som etter gjenoppløsning fra etanol smelter ved 190-191°C.

Analyse: C₁₉H₁₇N₃O₆ (molevekt 383)

Beregnet: C = 59,6 H = 4,4 N = 11,0

Funnet: C = 59,6 H = 4,7 N = 11,0.

På analog måte som omtalt i eksempel 1, fåes i følgende sammenstilling oppførte forbindelser.

Eksempel nr.	Formel	Smp. i °C	Utseende
2		145-146	lysegule krystaller
3		193	lysegule krystaller
4		178	lysegule krystaller

126798

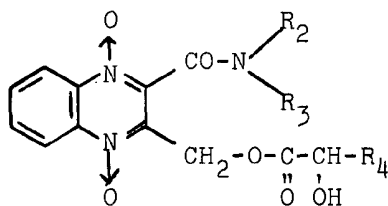
I følgende tabell er det sammenlignet forbindelsen fremstillet ifølge eksempel 1 i det svenske utlegningsskrift nr. 319.180 (2-formyl-kinoksalin-1,4-di-N-oksyd-karbometoksy-hydrazon, "Carbadox") med forbindelsen fremstillet ifølge eksempel 1 ifølge oppfinnelsen.

"Carbadox" (eksempel 1, svensk utlegningsskrift nr. 319.180) resorberes ikke subkutan og frembringer nekroser på injeksjonsstedet. På grunn av dets mindre oppløselighet er "Carbadox" heller ikke anvendbart intravenøs. Derimot er forbindelsene ifølge oppfinnelsen godt anvendbare og virksomme såvel subkutan som også intravenøst.

Dyreforsøk med Escherichia coli C 165	Eksempel 1 ifølge oppfinnelsen	"Carbadox"
	ED ₁₀₀ oral = 12-15 mg/kg	ED ₁₀₀ oral = 25-30 mg/kg
	ED ₁₀₀ s.c. eller i.V. = 5-10 mg/kg	ED ₁₀₀ s.c. = 50 mg/kg
Nyreprøve med Proteus sp. 7 dager, behand- ling 2 ganger daglig, oralt	7 mg/kg	15 mg/kg

P a t e n t k r a v :

Analogifremgangsmåte til fremstilling av terapeutisk aktive 3-karboksytsyreamido-kinoksalin-di-N-oksyder-(1,4) med formelen



hvor

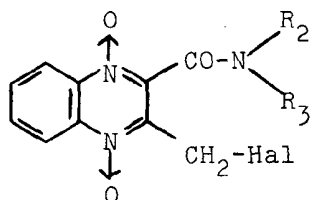
R₂ og R₃ er like eller forskjellige og betyr hydrogen eller en lavere alkylrest, og

R₄ betyr hydrogen, en lavere alkylrest eller en fenylrest,

karakterisert ved at man i et organisk oppløsningsmiddel, eventuelt i nærvær av vann i temperaturområdet fra 10 til ca. 160°C, omsetter 2-halogenmetyl-3-karbonytsyreamido-kinoksalin-di-N-oksyder-

126798

(1,4) med den generelle formel

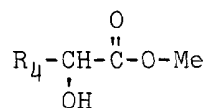


hvor

R_2 og R_3 har den ovennevnte betydning,

Hal betyr klor og brom,

med salter av α -hydroksey-karbonsyrer med formel



hvor

R_4 har den ovennevnte betydning, og

Me betyr natrium, kalium eller ammonium.

Anførte publikasjoner:

Svensk utl. skrift nr. 319180